

56

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 特 許 公 報 (B 2)

(11) 特許番号

特許第3238711号

(P3238711)

(45) 発行日 平成13年12月17日 (2001. 12. 17)

(24) 登録日 平成13年10月 5 日 (2001. 10. 5)

(51) Int.Cl.<sup>7</sup>

識別記号

F I

A 6 1 L 24/00

C 0 9 J 103/10

// C 0 9 J 103/10

A 6 1 L 25/00

A

請求項の数46(全 13 頁)

(21) 出願番号 特願平10-517260

(86) (22) 出願日 平成 9 年10月 7 日 (1997. 10. 7)

(65) 公表番号 特表2000-503883 (P2000-503883A)

(43) 公表日 平成12年 4 月 4 日 (2000. 4. 4)

(86) 国際出願番号 P C T / F R 9 7 / 0 1 7 8 7

(87) 国際公開番号 W O 9 8 / 1 5 2 9 9

(87) 国際公開日 平成10年 4 月16日 (1998. 4. 16)

審査請求日 平成10年 9 月25日 (1998. 9. 25)

(31) 優先権主張番号 9 6 / 1 2 2 0 0

(32) 優先日 平成 8 年10月 7 日 (1996. 10. 7)

(33) 優先権主張国 フランス (F R)

(31) 優先権主張番号 9 6 / 1 5 8 8 8

(32) 優先日 平成 8 年12月23日 (1996. 12. 23)

(33) 優先権主張国 フランス (F R)

(73) 特許権者 999999999

ソシエテ アノニム ドゥ デベロプマ

ン デ ウティリザシオン デュ コラ

ジーン-エス. ア. デ. ユ. セ.

フランス国, エフ-69630 シャボノー,

ゼッド. イ. デ トローク

(72) 発明者 ターディ, ミッシェル

フランス国, エフ-69005 リヨン, リ

ュ ジョリエ キリ, 165

(72) 発明者 ボルクマン, エルベ

フランス国, エフ-69005 リヨン, ア

ベニュー ドゥ メニバル, 36

(74) 代理人 999999999

弁理士 石田 敬 (外 3 名)

審査官 高原 慎太郎

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 マクロモレキュラーポリアルデヒドベースの接着剤組成物及びコラーゲンの架橋方法

1

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】 外科手術用及び／又は治療用の生体適合性、生体吸収性、及び無毒性の接着剤組成物であって、酸化された多糖類又はムコ多糖類からなる、天然物由来の少なくとも 1 つの生分解性マクロモレキュラーポリアルデヒドの水溶液を含むことを特徴とする接着剤組成物。

【請求項 2】 外科手術用及び／又は治療用の生体組織同士又は生体組織と移植された生体材料とを接着するための、生体適合性、生体吸収性、及び無毒性の接着剤組成物であって、酸化された多糖類又はムコ多糖類からなる、天然物由来の少なくとも 1 つの生分解性マクロモレキュラーポリアルデヒドの水溶液を含むことを特徴とする接着剤組成物。

【請求項 3】 更に、水性媒体に溶解した、下記のもののか

2

ら選ばれたコラーゲンベースの組成成分を含有することを特徴とする請求項 1 又は 2 記載の接着剤組成物。

—少なくとも部分的にヘリカル構造を消失した、主として  $\alpha$  鎖からなる加水分解されていないコラーゲン、  
—濃度 5 % 以下の天然コラーゲン。

【請求項 4】 自然に得られた酸性 pH の、天然物由来の少なくとも 1 つの生分解性マクロモレキュラーポリアルデヒド水性溶液を含有することを特徴とする請求項 1 ~ 3 のいずれかに記載の接着剤組成物。

【請求項 5】 多糖類又はムコ多糖類が、でんぶん、デキストラン、かんてん、セルローズ、キチン、キトサン、アルギン酸、グリコサミノグリカン、ヒアルロン酸若しくはコンドロイチン硫酸、又はそれらの誘導体を含む群から選ばれることを特徴とする請求項 1 ~ 4 のいずれかに記載の接着剤組成物。

【請求項6】多糖類がでんぷん及びデキストランから選択されたものであることを特徴とする請求項1～5のいずれかに記載の接着剤組成物。

【請求項7】ポリアルデヒドが、過ヨウ素酸又はその塩によって酸化された多糖類又はムコ多糖類からなることを特徴とする請求項1～6のいずれかに記載の接着剤組成物。

【請求項8】生分解性マクロモレキュラーポリアルデヒドが酸化でんぷんであることを特徴とする請求項6又は7に記載の接着剤組成物。

【請求項9】多糖類が10,000～200万ダルトンの分子量を有することを特徴とする請求項1～8のいずれかに記載の接着剤組成物。

【請求項10】1又は複数のポリアルデヒドの濃度0.5～5重量%水溶液を含有することを特徴とする請求項1～9のいずれかに記載の接着剤組成物。

【請求項11】酸性の凍結乾燥した形態のポリアルデヒドを水又は生理的緩衝剤を用いた水に溶解することにより水溶液を得ることを特徴とする請求項1～10のいずれかに記載の接着剤組成物。

【請求項12】少なくとも部分的にヘリカル構造を消失した、加水分解されてない、濃度10～20%のコラーゲン溶液を含有することを特徴とする請求項3～11のいずれかに記載の接着剤組成物。

【請求項13】少なくとも部分的にヘリカル構造を消失した、加水分解されてない、濃度15～18%のコラーゲン溶液を含有することを特徴とする請求項3～11のいずれかに記載の接着剤組成物。

【請求項14】濃度0.2～5%の天然コラーゲン水溶液を含有することを特徴とする請求項3～11のいずれかに記載の接着剤組成物。

【請求項15】混合に供する、コラーゲンに対するポリアルデヒドの割合が0.5～10重量%であることを特徴とする請求項3～14のいずれかに記載の接着剤組成物。

【請求項16】混合に供する、コラーゲンに対するポリアルデヒドの割合が3～10重量%であることを特徴とする請求項3～14のいずれかに記載の接着剤組成物。

【請求項17】1～2日と30～60日との間に身体に吸収可能であることを特徴とする請求項1～16のいずれかに記載の接着剤組成物。

【請求項18】手術後の癒着を回避するための請求項1～17に記載の接着剤組成物。

【請求項19】組織及び／又は生体材料に用いるための、外科手術用及び／又は治療用の生体適合性、生体吸収性、及び無毒性接着剤組成物の製造方法において、架橋に先立って、水性媒体に溶解した下記のものから選ばれたコラーゲンベースの組成分と、  
－少なくとも部分的にヘリカル構造を消失した、本質的にα鎖からなる加水分解されてないコラーゲン、  
－濃度5%以下の天然コラーゲン、

酸化された多糖類又はムコ多糖類からなる、天然物由来の少なくとも一つの生分解性マクロモレキュラーポリアルデヒドの水溶液とを混合する工程を含むことを特徴とする製造方法。

【請求項20】コラーゲンベースの組成分の溶液及びマクロモレキュラーポリアルデヒド溶液が、請求項3～18のいずれかに規定されたものであることを特徴とする請求項19に記載の製造方法。

【請求項21】混合物が20～45℃の温度で製造されることを特徴とする請求項19又は20のいずれかに記載の製造方法。

【請求項22】混合物が37～42℃の温度で製造されることを特徴とする請求項21に記載の製造方法。

【請求項23】混合物が生理的、中性pHで製造されることを特徴とする請求項19～22のいずれかに記載の製造方法。

【請求項24】架橋が5分以内で行われることを特徴とする請求項19～23のいずれかに記載の製造方法。

【請求項25】外科手術用及び／又は治療用の生体適合性、生体吸収性、及び無毒性の接着剤を得るための、酸化された多糖類又はムコ多糖類からなる天然物由来の生分解性マクロモレキュラーポリアルデヒドの水溶液の使用。

【請求項26】外科手術用及び／又は治療用の生体組織同士又は生体組織とポリアルデヒドに対するアミン含有反応性官能基を有する移植された生体材料とを接着する、生体適合性、生体吸収性、及び無毒性の接着剤を得るための、酸化された多糖類又はムコ多糖類からなる天然物由来の生分解性マクロモレキュラーポリアルデヒドの水溶液の使用。

【請求項27】生分解性マクロモレキュラーポリアルデヒドが酸化でんぷんである請求項25又は26に記載の使用。

【請求項28】水性媒体に溶解した下記のものから選ばれたコラーゲンベースの組成分を組み合わせた請求項25～27のいずれかに記載の使用。

－少なくとも部分的にヘリカル構造を消失した、主としてα鎖からなる加水分解されてないコラーゲン、  
－濃度5%以下の天然コラーゲン。

【請求項29】手術後の癒着を回避するための請求項25～28に記載の使用。

【請求項30】請求項1～18のいずれかに規定された接着剤組成物を得るための請求項25～29のいずれかに記載の使用。

【請求項31】外科手術用及び／又は治療用の生体適合性、生体吸収性、及び無毒性の接着剤組成物を含有するキットにおいて、

－酸化された多糖類又はムコ多糖類からなる、天然物由来の少なくとも一つの生分解性マクロモレキュラーポリアルデヒド含有の水溶液を含有することを特徴とするキ

ット。

【請求項32】シリンジの形態であることを特徴とする請求項31記載のキット。

【請求項33】生分解性マクロモレキュラーポリアルデヒドが酸化でんぷんである請求項31又は32に記載のキット。

【請求項34】更に下記のものを含むことを特徴とする請求項31～33のいずれかに記載のキット：

－下記のものから選ばれたコラーゲンベースの組成分の水溶液、

- ・少なくとも部分的にヘリカル構造を消失した、主として $\alpha$ 鎖からなる加水分解されてないコラーゲン、
- ・濃度5%以下の天然コラーゲン、
- －前記各溶液を即座に混合するための混合手段。

【請求項35】混合手段を接合した、一方のシリンジがコラーゲンベースの組成分溶液を内蔵し、又他方のシリンジがマクロモレキュラーポリアルデヒド溶液を内蔵する2本のシリンジで構成されることを特徴とする請求項34に記載のキット。

【請求項36】自然に得られた酸性pHの天然物由来の少なくとも1つの生分解性マクロモレキュラーポリアルデヒド含有の水溶液を含むことを特徴とする請求項31～35のいずれかに記載のキット。

【請求項37】濃度0.5～5重量%である1又は複数のポリアルデヒド水溶液を含むことを特徴とする請求項31～36のいずれかに記載のキット。

【請求項38】ポリアルデヒド溶液を、酸性の凍結乾燥形態のポリアルデヒドを水又は生理的緩衝剤を用いた水に溶解して得ることを特徴とする請求項31～37のいずれかに記載のキット。

【請求項39】少なくとも部分的にヘリカル構造を消失した、主として $\alpha$ 鎖からなる加水分解されてないコラーゲンの10～20%溶液を含むことを特徴とする請求項34～38のいずれかに記載のキット。

【請求項40】一方で、少なくとも部分的にヘリカル構造を消失した、主として $\alpha$ 鎖からなる加水分解されてないコラーゲンの18%水溶液と、他方で酸化でんぷんの3%溶液とを、1/24の割合で含むことを特徴とする請求項34～39のいずれかに記載のキット。

【請求項41】濃度0.2～5%の天然コラーゲン水溶液を含むことを特徴とする請求項34～38のいずれかに記載のキット。

【請求項42】1の溶液又は複数の溶液が+1～25℃の温度に維持されることを特徴とする請求項34～41のいずれかに記載のキット。

【請求項43】1の溶液又は複数の溶液が+2℃～+8℃の温度に維持されることを特徴とする請求項34～41のいずれかに記載のキット。

【請求項44】請求項1～18のいずれかに記載の組成物を含むことを特徴とする請求項31～43のいずれかに記載

のキット。

【請求項45】生体組織同士又は生体組織とポリアルデヒドに対するアミン含有反応性官能基を有する移植された生体材料とを接着する、生体適合性、生体吸収性、及び無毒性の接着剤を得るための請求項31～44のいずれかに記載のキット。

【請求項46】手術後の癒着を回避するための請求項31～45のいずれかに記載のキット。

【発明の詳細な説明】

10 この発明は、外科手術用及び治療用に供される生体内分解性及び無毒性の生体接着剤分野に関する。

更に詳細には、この発明は、生体適合性、生体吸収性、及び無毒性の、少なくとも1つのマクロモレキュラーポリマーアルデヒドベースの接着剤組成物に関する。

又、この発明は、更にコラーゲンベースの組成分を含む接着剤組成物に関する。

又、生体組織及び／又は生体材料に速やかに適用するための接着剤材料を得ることを可能とする、溶解コラーゲンの架橋方法に関する。

20 コラーゲンの架橋は、グルタルアルデヒド若しくはホルムアルデヒドのごときタンニン化剤、又は、ジイソシアネート若しくは他の反応物を別々に利用した化学的手法によっても、又ガンマ線、ベータ線、あるいは紫外線照射のごとき物理的手段によっても実施できる。

しかしながら、後者の方法は、実施することがわずらわしく、時には困難でさえあり、又架橋を進める一方で、分子分断を起こす。

30 化学的手法についてみると、グルタルアルデヒド（ホルムアルデヒド）による処理が、コラーゲンを架橋するために最も多く利用される処理であって、コラーゲンの粉末、フィルム、ゲル、又は適当な濃度のコラーゲン溶液をグルタルアルデヒド溶液に浸漬することにある。その処理は、適用に当たっていくつかの欠点がある。グルタルアルデヒドを水性のコラーゲンベース構造に導入すると、形成されたゲル中に拡散することによって、過剰のグルタルアルデヒドが特に急速に分離する。

40 外科手術あるいは治療において、それは毒性反応を生じ、その結果組織の壊死を起こすか、それほどひどくはないが厳しい生体反応を起こすことになり、ひいては傷の治癒が不十分となるか、又は遅れることとなる。これが今日の市場で利用可能なコラーゲンベース接着剤に係る実情である。

このGRFと呼ばれる接着剤において、ゼラチンの架橋は、レゾルシノールの存在下でホルムアルデヒドによって形成される。レゾルシノールは、本質的には接着剤の塊の溶解を減少させるために使用される。この接着剤は1960年代から1980年代の間に使用されていたが、現在、事実上その使用は、ホルムアルデヒドの分離が困難なこと及びその毒性があることの理由で、利点がリスクを上回る場合（大動脈切開）のような、稀少な用例に限られ

ている。ホルムアルデヒドを過剰量使用することは、コラーゲンベースゲルの速やかな架橋をする上で、又周辺組織との接着をよくする上で必要とされる。この過剰量のホルムアルデヒドが、GRF接着剤の生体適合性の劣る原因となっている。したがって、今日では、外科手術用若しくは長期にわたる傷の治癒、傷口の保護若しくは漏れ防止、又は治療薬のリリースの目的でこの接着剤を使用することは一般化できない。

かんでんのごときゲル化剤の添加により、ホルムアルデヒド、グルタルアルデヒド、又はジアルデヒドを含有する媒体の粘度を増大させる改善が最近提案された（ジー・イゾレット（G・Izoret）特許出願、WO96/14368）。しかしながら、この改善によって、架橋剤の拡散は減速されるけれども、拡散の危険は減少しない。

更に、有毒な化学剤で架橋されたコラーゲンの生体適合性は、用いられる架橋剤の量を最低限にすることにより改善できる。これは、移植用予備形成材料の製造者の要する反応時間をできるだけ長くすることができる場合に可能となる。この場合、少量の架橋剤が用いられ、架橋された材料は、製造工程の終わりに注意深く洗浄されて、過剰の反応体が除去される。

この場合、外科手術に使用される最終的に架橋された材料は、コラーゲンベースの繊維の固体又は懸濁液であるが、これらの材料は、周囲の生体組織への接着性がない。

この生体接着剤を製造するとき、コラーゲン若しくはゼラチン、又は他の反応性高分子若しくは分子の架橋を速やかにするために、しばしば外科医自身が処置される生体組織に触れながら、二種の液体を混合すること必要となる。

例えば、イミュノ コンパニィ（Immuno company）から「テッシュコール（Tissucol）」の名称で、ベリンベルケ（Behringwerke）から「ベリブラスト（Beriplast）」の名称で、又バイオトランスフュージョン（Biотransfusion）から「バイコール（Bicoll）」の名称で市販されている接着剤が知られている。これはファクターXIII及びフィブロンネクチンを含有するフィブリノーゲン（70～140mg/ml）の濃縮液である。これらの重合反応は、その場で混合する混合物中のトロンビン（4～400国際単位）溶液によって生起する。フィブリノーゲンは、重合の結果、フィブリンとなり、凝塊を形成して、接触する生体組織を確実に接着する。

この製品及びその製品の組成分によって生ずる難点及び主な問題点は、一方では、フィブリノーゲン溶液の各組成分（ファクターXIII、フィブロンネクチン、アプロチニン）の量の完全な表示と再現性がないことであり、又他方では、非従来型感染性活性物質のような脱外被ウィルスに関して、その製品は、ウィルスの不活性化が困難なことである。このことは、その製品を大規模に採用する可能性を制約してきた。

タルディ（Tardy）ら（フランス特許出願第9400715号）は、例えば、過ヨウ素酸ナトリウムによって酸化され、0℃以下の温度、好ましくは-20℃程度で凍結された形態で酸性pHで保管されたコラーゲン（又はゼラチン）溶液と、アルカリ水溶液とを別々に収納した2本のシリンジからなるキットを利用して製造するコラーゲンベースの生体接着剤を開示している。各組成分は、酸化コラーゲン（またはゼラチン）ゲルが約40℃に再加熱された後に、2本のシリンジに接続する混合器によって確実に混合されて、生体適合性接着剤が得られる。接着剤の架橋は、2、3分で完了する。

この接着剤の特性は、ある用途には有用であるが、この技術の主な問題点は、製品の配給に複雑な冷却システムが必要なことである。それはコストを高くし、急速冷却設備がない場合に使うのをためらわせる。

また、アルブミン又はコラーゲンベースの生体接着剤を作るために、反応性のポリエチレングリコール誘導体を用いることが提案された（バロウズ（Barrows）ら。特許WO第96 031 59A1；（ディ・シエラ（D.Sierra）－組織シーラント会合ラジョラ（LA JOLLA）、1996）。しかしながら、これらの反応体は、水にあまり安定でなく、特別な保管法を必要とする。その最適な反応性pHは、アルカリ性であり、生理的pHでない。更に、これらの製品の吸収期間は、大変長く、3～4週間以上になる。このことは、ある用途において大きな欠点となる。

強力な接着を得るために、速やかに、時には、事実上即座に流体溶液を固化することが明らかに必要な場合、化学的架橋用反応物を過剰に用いることが必要となり、その結果、毒性が生じ、組織適合性が乏しくなる。

又、ゼラチン、又は酸化でんぷん若しくは酸化グルタルアルデヒドをベースとする組織接着剤が、最近、資料WO97/29715（フュージョン メディカル テクノロジー インコ（Fusion Medical Technology Inc.））で紹介された。

これらの接着剤は、粘度が非常に高くなり、シリンジで適用するには、50～80℃の程度の高温で加熱する必要がある。

これらの接着剤は、使用されたアルデヒドに基づく強い毒性の危険の外、特にその適用温度が原因で、処置された組織を損傷することとなる。

この発明の目的は、上述のごとき主な欠点のない接着剤組成物を提供することである。

このように、この発明の目的は、ある時間安定で、比較的簡単な条件下で保管可能な、特に注射針又はカテーテルで注入可能な生体適合性、生体吸収性及び無毒性の、外科手術用及び／又は治療用に適した接着剤組成物を提供することである。

又、この発明の目的は、改善された接着性及び機械特性を示す接着剤組成物を提供することである。

この発明の他の目的は、特にコラーゲン又はゼラチン

の架橋が非常に速やかに起こり、その割合を簡単に変更できる接着剤組成物を提供することである。

又、この発明の他の目的は、いかなる毒性危険、特に架橋剤の拡散による毒性危険、も示さない接着剤組成物を提供することである。

又、この発明の他の目的は、生物中の組織を含む生体組織同士、又はその生体組織と、それ自体が接着剤であってもよい（それ自身の上で使用する）、移植された生体材料とを、接着させる接着剤組成物を提供することである。

更に、この発明の目的は、特に簡単に利用でき、又被施用者の体になんの危害も与えない接着剤組成物を得ることができるコラーゲン（又はゼラチン）の架橋方法を提供することである。

この発明の他の目的は、利用が簡単で実用的な、外科手術用及び／又は治療用の、上記接着剤組成物を含有するキットを提供することである。

この目的のために、この発明は、生体適用性、生体吸収性、又無毒性の、外科手術用、及び／又は治療用の、特に生体組織を互いに接着し、又は生体組織と移植された生体材料とを接着させるための接着剤組成物であり、組成物が、酸化でんぷん又は類似の安定性を有するポリアルデヒドのごとき天然物由来の少なくとも1つの生分解性マクロモレキュラーポリアルデヒドを含有することを特徴とする接着剤組成物である。

そのような水性溶液の安定性は、溶液が自然に酸性になるという事実に基づいて当然得られると考えられる。

このように、この発明の主題は、特に、自然に得られる酸性pHの水性溶液、又は酸性の凍結乾燥した形態のポリアルデヒドを含有する組成物である。

この発明のその他の主題は、一方で、

－少なくとも部分的にヘリカル構造消失した、主としてα鎖からなる加水分解されてないコラーゲン、及び

－濃度5%以下の天然コラーゲン、から選ばれた、水性媒体に溶解されたコラーゲンベースの組成分を含有し、

他方で、

上記定義のごとき、少なくとも1つの天然物由来の生分解性マクロモレキュラーポリアルデヒド水性溶液を含有することを特徴とする接着剤組成物である。

又、この発明は、組織及び／又は生体材料に適用することを意図した、外科手術用及び／又は治療用の、生体適合性、生体吸収性、及び無毒性の接着剤の製造方法において、

－少なくとも部分的にヘリカル構造消失した、本質的にα鎖からなる加水分解されてないコラーゲン、及び

－濃度5%以下の天然コラーゲン、から選ばれた水性媒体に溶解されたコラーゲンベースの組成分と、

少なくとも1つの天然の生分解性マクロモレキュラー

ポリアルデヒド水性溶液とを、架橋に先立って、上記定義のpHで混合することからなる工程を含むことを特徴とする製法を提供する。

又、この発明は、外科手術用及び／又は治療用の、特に生体組織同士又は生体組織と前記ポリアルデヒドに対して反応性のアミン含有反応性基を有する移植生体材料とを接着する、生体適合性、生体吸収性、及び無毒性の接着剤組成物を得るために、上記定義の天然物由来の生分解性マクロモレキュラーポリアルデヒド水性溶液を使用することを主題とする。

又、この発明は、上記定義のコラーゲンベース組成分の水溶液とともに、そのポリアルデヒド水性溶液を使用することを主題とする。

最後に、この発明は、外科手術用及び／又は治療用を意図した生体適合性、生体吸収性、及び無毒性の接着剤組成物用のキットであり、

－上記定義の、少なくとも1つの天然物由来の生分解性のマクロモレキュラーポリアルデヒドを含有する水性溶液を含むことを特徴とするキットを主題とする。

又、この発明は、

－下記のものから選ばれたコラーゲンベースの組成分の水溶液、

・少なくとも部分的にヘリカル構造を消失した、本質的にα鎖からなる加水分解されてないコラーゲン、及び

・濃度5%以下の天然コラーゲン、

－上記定義のとおり、少なくとも1つの天然物由来の生分解性マクロモレキュラーポリアルデヒドを含有する水溶液、

－その場で上記溶液同士を混合する混合手段、を含む接着剤組成物用のキットを主題とする。

又、この発明は、生体材料を生体組織に接着する方法において、上記定義の、少なくとも1つの天然物由来の生分解性マクロモレキュラーポリアルデヒドを含有する水溶液を、組織及び／又は前記ポリアルデヒドに対する反応性基、特にアミン含有反応性基、を有する生体材料に対して、20～45℃で適用することを特徴とする方法を主題とする。

又、この発明は、生体組織同士又は生体組織と移植された生体材料とを接着する方法において、

－下記のものから選ばれたコラーゲンベースの水溶液：

・少なくとも部分的にヘリカル構造を消失した、主としてα鎖からなる加水分解されてないコラーゲン、

・濃度5%以下の天然コラーゲン；

及び上記定義の、天然物由来の少なくとも1つの生分解性マクロモレキュラーポリアルデヒドを含有する水溶液を、中性、生理的pHで混合し；

－得られたゲルを、前記組織及び／又は前記マクロモレキュラーポリアルデヒドに対して反応性のある反応性

基、特にアミン含有反応性基、

を有する生体材料に対して、20〜45°Cで速やかに適用し；そして

ー前記混合物を重合することを特徴とする接着する方法を主題とする。

本発明者らは、そのような天然物由来の生分解性マクロモレキュラーポリアルデヒドの生体内組織への強力な接着性、及び体内にとどまる間その接着特性を維持する一方、被施用者の身体へ極めて具合良くなじむことに基づく接着剤性能を全く偶然に発見した。

本発明者らは、このようにして、生体内組織を含めた生体組織同士、及び生体組織とマクロモレキュラーポリアルデヒドに対して反応性のある官能基、特にアミン含有官能基、を有する生体材料とを接着させることが可能であることを発見した。

本発明者らは、驚くべきことに、生分解性のマクロモレキュラーポリアルデヒドの形で、一定のコラーゲン又はゼラチンの架橋に必要とされる過剰量の化学反応物を用いて生体接着剤を製造できること、又この接着剤が、生理的温度に近い温度で生物中の組織に効果的に適用できること、その結果、組織障害を起こさないこと、又接着の品質並びに機械的強度に関して、特に改善された特性を有することを発見した。

この発明において、「天然物由来の生分解性マクロモレキュラーポリアルデヒド」は、天然の生分解ポリマーから誘導されるいくつかのアルデヒド基を有する全ての化合物を意味すると解釈される。

「生分解性」の用語は、段階的分解（代謝）により消失できるマクロモレキュラーポリアルデヒドを意味する。

マクロモレキュラーポリアルデヒドは、それ自体、長い間知られている方法によって、多糖類又はムコ多糖類の、特に過ヨウ素酸又はその塩による、酸化により容易に製造することができる。そのような酸化多糖類の製造方法は、過去において、古い文献 {ジョンソン アンド ジョンソン (Johnson & Johnson) 特許USA3,093,439、ユニバー (Unilever) GB-A-1 109,509} に、固体のコラーゲンベース材料、又は緩衝媒体中に溶解されたゼラチンを架橋して安定化する方法として既に提案されている。

しかしながら、本発明者らは、そのような架橋剤の使用に当たって、毒性及び生体組織適合性の観点から、公知の生体接着剤、特にGR接着剤において非常に問題とされた架橋剤の拡散現象が観察されないことを発見した。

本発明者らは、特に、アルデヒドの必要量をコラーゲン又はゼラチンに導入する際に、マクロモレキュラーポリアルデヒドは、そのアルデヒドによって形成される接着剤ゲル中に捕捉されることを発見した。

本発明において使用されるマクロモレキュラーポリ

ルデヒドは、酸化された多糖類又はムコ多糖類から得ることが好ましい。

多糖類は、10,000〜200万ダルトンの分子量を持つものが好ましい。

本発明の実施に適した多糖類又はムコ多糖類として、でんぶん、デキストラン、かんてん、セルロース、キチン、キトサン、アルギン酸、グルコサミノグリカン、ヒアルロン酸及びコンドロイチン硫酸又はその誘導体が挙げられる。

10 本発明において、でんぶん、デキストランが好ましく、特に最も好ましいのはでんぶんである。

ポリアルデヒドは、それ単独で、又はその混合物として使用できる。

本発明において使用される「ポリアルデヒド」の用語は、単一のポリアルデヒド又は複数のポリアルデヒド混合物を同等に意味する。

本発明において、ポリアルデヒドは、それ自体公知の方法に従って、上記の化合物を過ヨウ素酸又は過ヨウ素酸塩、好ましくは過ヨウ素酸ナトリウムで酸化することにより得られる。

酸化するため、0.01〜1M、好ましくは、0.25〜0.5Mの濃度になるまで、過ヨウ素酸又は過ヨウ素酸塩溶液を多糖類又はムコ多糖類溶液に添加する。

酸化工程は、1又は複数の多糖類の溶液、ゲル、又は懸濁液の状態で実施できる。

次いで、酸化された多糖類は、反応の過程で得られたヨウ素誘導体、又は過剰の反応体、並びに酸化反応により得られた反応生成物及び反応体を除去するため、透析、ダイアフィルトレーション、ろ過、又は限外ろ過に供される。

30 凍結乾燥も利用可能であり、凍結乾燥されたものの再溶解は、水により、又は必要な生理的緩衝剤を加えた水により可能である。

本発明における接着剤組成物は、上記に定義した天然物由来の少なくとも1つの生体吸収性マクロモレキュラーポリアルデヒドを含む。

好ましくは、0.5〜5重量%の1又は複数のポリアルデヒド含有水性溶液である。

40 ポリアルデヒド水性溶液は、自然に酸性となり、安定性に好ましい。このpHを変える緩衝剤が存在すると、長い時間にわたり順次反応性の低下が観察される。このように、ポリアルデヒドは、使用のときまで、水溶液において自然になる酸性pHで保管するか、又は凍結乾燥の形態で保管することが有利である。

溶液は、空気がない状態で安定で、又+1°C〜+25°Cの温度で保管することが好ましい。

この接着剤組成物は、生体組織同士及び生体組織と移植された生体材料を接着させるために、使用に際し、適当な緩衝剤によって中性化した後に使用することが好ましい。



これらの条件下で、中性化されたポリアルデヒド溶液は、室温で少なくとも1日は安定である。

ポリアルデヒド溶液の適用温度は、20～45℃である。

移植された生体材料の場合、後者は、組成物中に存在する1又は複数のポリアルデヒドに対する反応性のある官能基、特にアミン含有官能基によって形成される官能基を有する。

その材料は、下記に示すコラーゲン又はゼラチンを含有することができる。

生体材料と接着剤組成物との接触時間は、当該材料を本来の場所に適用する前に10秒～3分程度がよいと考えられる。

接着は、生理的pHで、37～40℃程度の温度で、一般的には10秒～3分かかって徐々に形成される。

この接着時間及び形成された接着剤の生体内での分解時間は、マクロモレキュラーポリアルデヒド溶液の濃度の関数として、又下記多糖類の酸化の程度によって調整できる。

この発明の第二の態様によれば、接着剤組成物は、上記に定義した天然物由来の少なくとも1つの生分解性マクロモレキュラーポリアルデヒドを含有する溶液、及びコラーゲンベースの組成物の溶液を含む。

この発明において、「コラーゲンベースの組成物」の用語は、加熱操作又はその他の方法で、ヘリカル構造を少なくとも部分的に消失したコラーゲン、又はその代わりに天然コラーゲンを意味する。

コラーゲンのヘリカル構造を変性するために加熱する場合、形成されるゼラチンの加水分解による減成を避けるために、加熱は穏やかにしなければならないし、又温和な条件下で実施しなければならない。

このコラーゲンは、加水分解されておらず、又主としてα鎖で構成されている。

この発明の意味する範囲で、α鎖は、全α鎖、又は少数のアミノ酸をなくすことによって全α鎖から分離された断片を意味するものと解される。

全α鎖の分子量は、一般的には、ほぼ100kDaであり、換言すれば、場合によって、95～130kDaである。

この発明において、「加水分解されない」の用語は、ほぼ100kDaより少ない分子量のコラーゲンベース鎖が、10%以下であることを意味する。

「天然コラーゲン」は、下記に示すように、化学的修飾をされたものあってもよく、又はその代わりにテロペプチドを除去するために処理されたものでもよいが、本来のヘリカル構造を保持しているコラーゲンを意味するものと解される。

この発明において使用されるコラーゲンは、人又は動物由来のもので、タイプI、III若しくはIV、又はそれらの混合物を起源とするものとして行うことができる。

又、原料となるコラーゲンは、メチル化、スクシニル化、又は他の公知の方法によって化学的に修飾すること

ができる。

コラーゲンは、無菌（微生物の除去）に適した多孔フィルターでろ過できるようにするために、特にペプシンにより処理して、テロペプチドを除去したものが好ましい。

市販のゼラチンは、この発明の目的のためには使用できない。そのようなゼラチンを含有する接着剤は、本来生体組織を保護することが目的であるにも拘らず、特にシリンジ中で、組織（脳、神経、腸、角膜）の壊死及びバーニングを生ずる45～50℃より高温にして初めて、液体になり、使用可能となるようなゲルしか生成しない。

この発明によれば、コラーゲンは、水溶液の形態で使用する事ができる。

この目的のため、コラーゲンは、無菌条件下、好ましくは40～70℃の適正な温度で加熱することにより、水に溶解される。

溶解条件は、使用されるコラーゲンに応じて選択される。

このようにして得られたゼラチン製剤は、直ちに温度を40～70℃に維持しながら、無菌条件下でろ過する。

コラーゲンベース溶液は、緩衝剤、特に、磷酸塩の存在下又は非存在下で生理的pHであるのが好ましい。

この発明によれば、ゼラチン溶液は、10～20%、好ましくは15～18%溶液である。

この発明の他の態様において、特に、ろ過が困難な20%近くの高濃度のゼラチンを製造するために、溶液を無菌条件下で調整し、それをそのままこの発明に係る接着剤組成物の製造に直接使用する。

この態様において、無菌の希釈溶液を凍結乾燥し、又その後、無菌容器中で無菌水により、無菌パウダーを再溶解することにより、このような高濃度のものを得ることができる。これにより、汚染の危険のない操作が実施できる。

一般に、コラーゲンは、37℃以上に加熱され、これにより、3重らせんのヘリカル構造の大部分を消失する。最終生成物は、ゼラチン様であるが、その中の1次鎖の分子量は10万ダルトンに等しいかそれ以上であり、又それ以下の分子量鎖が10%以下である。このとおり、このゼラチンは加水分解されておらず、又、現在市場で利用可能なゼラチンとは異なる。

この発明において、「ゼラチン」の用語を使用する場合、それは上記のような生成物を意味している。

特に、生体中の分解時間を長くするために、コラーゲン中のヘリカル構造を保持したい場合、溶液は加熱しない。その場合、選択肢として、ペプシン処理した天然コラーゲンを原料として、5%以下、好ましくは0.2～ほぼ5%、特に好ましくは1～3%の低濃度の溶液を調整することが好ましい。

この発明における架橋方法は、上記の2つの溶液を混合することを含む。均一な混合物を製造することが好ま

しい。

ポリアルデヒドは、0.5～10重量%、好ましくは3～10重量%の割合で、コラーゲン又はゼラチンと混合される。

上記溶液の混合は、生理的、中性pHで、又温度20～45℃、好ましくは、大体37～42℃程度で行うのが好ましい。

5%以下の濃度で天然のコラーゲンを使用する場合、常温、例えば温度20～30℃のコラーゲンベース溶液を使用することが好ましい。

この発明による接着剤組成物、及び架橋方法は、特に、組織の傷からの出血を止めるため、生体組織同士、若しくは生体組織と移植された生体材料とを接着させるため、外科手術若しくは長期の傷を治癒するため、縫合線の保護若しくは漏れ防止のため、手術後の癒着形成防止のため、又は延長徐放システムによる薬剤の徐放のため、並びに目の屈折性手術において、特に、角膜形成手術において用いられる。

用途に応じて、移植される生体材料は接着剤自体で構成され、その場合は、そのみで用いられる。

この発明は、手術後の癒着形成を避ける用途に供することができる、特に好ましい。

この発明は、又特に目の屈折性手術の分野で、接着剤によって、レンズ、特にコラーゲンで作られたレンズを角膜に接着させることを可能にする。

この発明は、以上のとおり、上記定義の天然物由来の生分解性マクロモレキュラーポリアルデヒドを、温度20～45℃、自然に得られた酸性pH水溶液、又は使用に当たって中性にした水溶液の形態で、前記生体組織及び/又は前記ポリアルデヒドに対して反応性のある官能基、特にアミン含有官能基、を有する生体材料に適用することを含む、生体材料を生体組織に接着する方法を提供する。

他の態様において、この発明は、上記の天然物由来の生体溶解性マクロモレキュラーポリアルデヒド水性溶液を、生理的、中性pHで、上記定義のコラーゲンベース水溶液と混合することを含む、生体組織同士、又は生体組織と移植された生体材料とを接着する方法を提供する。

このようにして得られたゲルは、その後直ちに、換言すれば、好ましくは1分以内に、20～45℃、好ましくは37～42℃の温度で、前記生体組織及び/又はマクロモレキュラーポリアルデヒドに対して反応性のある官能基、特にアミン含有官能基を有する生体材料に対して適用され、その後、その結合部分は重合する。

コラーゲンベースの組成分が天然コラーゲンである場合、接着剤を加熱する必要はなく、室温で適用できる。

コラーゲンベース成分の溶液とポリアルデヒド溶液は、別々に凍結乾燥しておいた各組成分を、緩衝するか、又は緩衝しないで、水性媒体に再溶解することにより得ることができる。

コラーゲンベース組成分の溶液と、マクロモレキュラーポリアルデヒド溶液とを混合して得た、均一で粘性のあるゲルは、次第に固化して、速やかに硬化し、例えば、適用された生体組織に強く接着する。

この発明において、架橋時間は調整することができ、同分量のコラーゲンに対するポリアルデヒド溶液の濃度を、特に3%以下に減少させることによって30秒以上に長くできる。

例えば、3～0.5%濃度のマクロモレキュラーポリアルデヒドを用いることによって、15%ゼラチン溶液の重合時間を、それぞれの濃度に応じて、15秒～5分の間で調整できる。

一般に生理的pHで、37～40℃程度の温度で、重合は次第に進む。

又、この発明の他の態様において、形成された接着剤の生体内の吸収時間は、用いられるマクロモレキュラーポリアルデヒドを得るために利用される多糖類の酸化度を変えることによって調整できる。このようにして、その吸収時間は、1～2日と30～60日との間で調整できる。

この生体内の吸収時間を調整するためには、過ヨウ素酸ナトリウムの最終濃度を、0.05M～0.1Mで変えることも好ましい。

一般には、ポリアルデヒド濃度が増せば増すほど、吸収時間も増す。

又、この発明は、外科手術用又は治療用、特に上記用途を意図したキットを提供する。

第1の態様において、そのキットは、シリンジに内蔵された少なくとも1つの生体吸収性マクロモレキュラーポリアルデヒドを含む。

1又は複数のポリアルデヒドの0.5～5重量%酸性溶液を用いることが好ましい。

この発明の他の態様において、キットは、2つのシリンジの形態が好ましく、その1つは、コラーゲンベース成分溶液を内蔵し、他の1つは、マクロモレキュラーポリアルデヒド溶液を内蔵する。そのコラーゲン溶液は、緩衝剤（特に磷酸塩緩衝剤）を用い又は用いなくて、シリンジ中で生理的pHである。

各シリンジは、その内容物が必要とする流動性に応じて、37～45℃の適正な温度に過熱された後、直ちに均質に混合できるように設計された混合器に接合する保持手段に固着される。

そのキットは、加水分解されてない、主にα鎖からなる10～20%のコラーゲン溶液と、0.5～5%のポリアルデヒド溶液とを含む。

好ましい態様として、このキットは、一方で18%コラーゲン溶液と、他方で3%酸化でんぷんを、1/24の割合で含有するように構成されている。

天然コラーゲンを使用する場合、キットは、5%又はそれ以下の水溶液、0.2～5%、更に好ましくは、1～



3%濃度の水溶液で構成する。

この発明による接着剤組成物、及び特に上記キットは、+1〜+25℃、好ましくは+2〜+8℃で保管できる利点を有する。

更に、この発明によれば、架橋時間を、3分以下に短縮することができ、又必要な条件に応じて、調整することができる。

同時に、この発明によって得られた接着力は、優れた生体適合性を維持しながらも、公知の接着剤により得られた接着力、特にフィブリン接着剤の接着力より高い。

更に、この発明は、有利なことに、ピールス及びブリオン（非従来型伝染性活性因子）の除去に有効なコラーゲンの製法、特にアルカリ処理の使用、によって、使用上の安全性を提供できる。これにより、フィブリン接着剤により生ずる主な問題点の1つを除く。

更に、これらフィブリン接着剤に比べると、この発明に基づく接着剤の粘度は、1000センチポイズより低くて、フィブリン接着剤粘度より高く、従って、速やかに接着することを容易にしている。

下記に示す実施例を参照して、更に詳細にこの発明を説明するが、その内容によって、この発明をなんら限定するものではない。

#### 実施例1:マクロモレキュラーポリアルデヒド溶液の製造

純粋の可溶性でんぷん溶液、又は分子量が10,000〜200万ダルトンの範囲で可変の、プラス電荷の官能基（アミノ基）、マイナス電荷の官能基（カルボキシル基又はスルホン酸基）、又は他のいかなるものでもよい官能基を有するデキストラン溶液に、過ヨウ素酸又は過ヨウ素酸ナトリウムの5%濃度水溶液を、0.01〜1M、好ましくは、0.25Mの濃度になるまで添加する。

実験室温で2時間接触後、その溶液を、蒸留水を対象とするカットオフ閾値5,000ダルトンの膜により、透析（又は限外フィルターによりダイアフィルターレーション）する。酸化反応の結果生じた透析可能な生成物及び反応体、並びに反応過程で生成したヨウ素含有誘導体又は過剰の反応体を完全に除去するまで、この透析を継続する。

得られたポリアルデヒド溶液は、自然に、安定性に都合のよい酸性になることが分かった。又、このように中性化緩衝剤を添加しないことが好ましい。

原料の多糖類から得られた、最終的に収集したポリアルデヒドポリマー溶液は、次に起泡により窒素で飽和させ、多孔度0.2μの膜によりろ過して、無菌状態で包装する。

この製品は、空気のない状態で、+2〜25℃で少なくとも1年安定である。

この発明に基づいてキットを作るために、製造した溶液をシリンジに充填する。

#### 実施例2:コラーゲン溶液の製造

酸性コラーゲンパウダーを温度40℃〜70℃で30分水に

溶解することにより、15%濃度のコラーゲンの酸性溶液を製造する。

流動性が出て、処理可能になると直ちに、この溶液に、標準の水酸化ナトリウム溶液を添加して、pH7.5に中性化する。

タイプIの牛のコラーゲンの場合、（皮又は腱から酸性pHで抽出し）酸可溶性であるか、又は後のろ過をより容易にするように、ペプシンにより消化して溶解する。

人の胎盤由来のコラーゲンの場合、このコラーゲンは、EP-A-0,214,035出願に記載の方法によって、ペプシンを用いて抽出して製造する。

勿論、その技術分野に属する専門家によく知られたコラーゲン中から、その他のコラーゲンを使用することもできる。

このように、加熱し、流動化し、又中性化したコラーゲン溶液を、その後、40℃〜70℃の適性な温度で、無菌法により、順次多孔度を下げたフィルターで前置ろ過を行った後、多孔度0.2μの膜でろ過する。

コラーゲン濃度20%（又はそれ以上）でろ過できない場合、コラーゲン溶液をろ過する前に希釈する。

別の選択的態様において、無菌の希釈溶液は、凍結乾燥される。その後無菌パウダーは、無菌容器中で、無菌水により所望の濃度に再溶解される。

この製品は、常温で少なくとも1年は安定である。

この発明に基づいてキットを製造するために、このようにして得たコラーゲン溶液は、40℃で容易にシリンジに供給できる。

#### 実施例3:接着剤混合物の製造

実施例1によって得た5%マクロモレキュラーポリアルデヒドの0.5mlシリンジと、実施例2によって得た15%コラーゲンの2mlシリンジとを準備する。各シリンジは、各々の内容物が40℃〜42℃の温度に、より高い流動性が必要なときには、45℃ちょうどの温度に加熱されて、均質に混合されるように設計された混合器に接合した保持具に固着される。

出口で得られた均質で、粘性のあるゲルは、同じ温度で、生理的pHで、15〜30秒かかって次第に固化し、又急速に硬化して、適用された生体組織に強く接着する。

37℃以下の組織表面又は傷にその混合物を適用すると、37℃以下でコラーゲンのゲル化が起こり、そのことに基づく固化によって、アルデヒド官能基とコラーゲンのアミン官能基との間の化学反応によって起こる重合を補完する。

その重合時間は、マクロモレキュラーポリアルデヒドを5%以下に希釈することにより、又は、2mlコラーゲンのシリンジ当たり、0.5ml以下の量使用することによって、15秒以上にすることができる。

マクロモレキュラーポリアルデヒド濃度を5〜0.5%とすることによって、重合時間をそれぞれに対応して15秒〜5分に調整できる。

例えば、実施例1の選択的態様のごとく、0.05M~0.1Mの最終濃度の過ヨウ素酸ナトリウムを用いて、酸化程度をより低くした多糖類の5%溶液を使用することもできる。

#### 接着性試験

このようにして製造した組織接着剤によって開発した接着力を、豚皮の表皮面上にのせたアクリル接着剤によって、張力計の2つのブラテンに対して別々に接着された、2本豚皮の6.25cm<sup>2</sup>細長片間に、上記混合物を適用することによって測定する。

40℃で混合し、又流体化した製品を、2本の細長片の各々の真皮面上に適用した後に、2枚のブラテンを、直ちに全体が4ニュートンの力で、1分間圧縮し、37℃で、30分間保温する。

ブラテンが徐々に離れるとき、2本の細長片の引張り張力を測定する。測定された力は、7.26ニュートンである。引張りに抵抗する反作用に供給された仕事量は、10.96ジュールである。

同じ条件で、「ティッシュコール (Tissucol)」フィブリン接着剤は、6.30ニュートンの力を示し、又11.25ジュールの仕事量を示す。

#### 実施例4:

実施例3の力と仕事量は、下記に説明するように、コラーゲン又はマクロモレキュラーポリアルデヒドの濃度を上げることにより、2倍又は3倍に増大させることができる。

実施例1に基づいて、5%マクロモレキュラーポリアルデヒド溶液の0.5mlシリンジを準備し、又実施例2の選択的態様に基づいて、20%コラーゲンの2mlシリンジを準備する。

手順は、実施例3と同様である。

接着性テストにおいて、測定された力は、12.15ニュートンであり、又引張り抵抗に対して供給された仕事量は、27.72ミリジュールである。

実施例5:コラーゲンで作られたレンズを、マクロモレキュラーポリアルデヒドにより、ウサギ角膜及び人間以外の霊長類の角膜に接着する接着剤

コラーゲンで作られたレンズの接着をするために、開瞼器で瞼を開けたままにして、角膜からレンズの径より大きい範囲で上皮を除去し、上皮が除去された範囲の細胞破片を注意深く洗浄除去する。

実施例1の手順により得られた2.5%又は5%ポリアルデヒド溶液を、レンズの凹面部分を完全に満すまで入れる。

30秒~2分接触させた後、角膜表面は乾燥され、過剰のポリアルデヒド溶液は吸引により除去され、その後、レンズが光軸中心にくるように留意しながら、レンズの凹面側を角膜上に置く。

へらを使って、レンズの端が角膜にびたっと平らになるようにする。

5分間接触させた後は、レンズの上に載せたへらによって眼球を動かすことができる。

この条件で、2.5~5%の濃度でマクロモレキュラーポリアルデヒドを使用した結果、目の前部にある構成要素 (アルビーノラビット (ニュージーランド) のみならず、人間以外の霊長類 (マカカスーサイノモルガス) の角膜、結膜、虹彩、瞼) に対して、治療による炎症反応は起きない。

組織接着剤の製造の先行技術における従来型の架橋剤を使用する場合に比較して、毒性反応及び局部的炎症のないことから、この発明による接着剤組成物がすぐれていることは明らかである。

#### 実施例6:手術後の癒着形成の防止

手術後癒着の防止における、この発明による接着剤の特性を示すために使用する実験モデルを、エリザベスハリス (Elisabeth Harris) とジョージ ロードヒーバー (George Rodeheaver) のチームが発表した (Surgery, 117, 6, 663-669, 1995)。

この論文に記載された実験は、10匹のラットグループに対してなされた。

実験は、腹膜の内壁及び盲腸を互いに接触させて、その面積2cm<sup>2</sup>の部分を摩耗及び脱水させることにより行われた。

照査標準のラットグループには、上記のようにして創られた傷を保護するためのいかなる製品も適用しない。この照査標準のラットグループと、実施例3に記載した2つのシリンジと、互いに向かい合う2つの傷の各々に適用する接着剤とで構成したキットを利用して、同実施例によって得たこの発明の生体組織接着剤1ml~2mlを適用したラットグループとを対比した。

論文に掲載された実験に従って7日待った後、下記結果が明らかとなった。:

この発明により得た生体組織接着剤により処理したラットグループでは、2つの傷害を受けた表面に癒着は観察されない。

この発明の接着剤で処理しない照査標準グループのラットでは、10匹のラットに対し1匹に癒着が見られる。この標数は、「Surgery, 117, 6, 663-669, 1995」に掲載された結果と一致している。

同論文によれば (第667頁表II)、フィブリン接着剤 (フィブリンシーラント) は、手術後の癒着形成を完全に防ぐには有効でないことがわかる。

この発明の生体組織接着剤の場合に明らかにされた抗癒着特性は、当該特性を有しないフィブリン接着剤の特性と比較すると特に驚くべきものである。

この発明によれば、処置する患者の安全性と有効性を高める抗癒着用バリアーを形成する接着剤組成物は、バリアーの移動の恐れがないように、カテーテルによる注入を含めて、所定個所に適用すべきである。

実施例7:この発明による接着剤組成物の反応時間に対す

るマクロモレキュラーポリアルデヒドの濃度の影響  
一方において、16.5%コラーゲン溶液と、他方において、3.3%酸化でんぶん溶液をベースとして、pH3.3で接着剤組成物を調整する（平均濃度は、屈折率（3.1%）を測定し、又乾物（3.5%）を調整することによって決定する。）。

\*

表 1

コラーゲン pH	リン酸塩濃度 (M)	酸化でんぶんの濃度 (最終濃度)	混合物の 重合時間
7.44	0.05	1 % (0.2 %)	45秒
		0.75 % (0.15 %)	1 分 5 秒
		0.5 % (0.1 %)	3 分
7.08	0.02	1 % (0.2 %)	2 分
		0.75 % (0.15 %)	2 分 30 秒
		0.5 % (0.1 %)	5 分
7.33	0.02	1 % (0.2 %)	1 分 15 秒
		0.75 % (0.15 %)	2 分
		0.5 % (0.1 %)	4 分

これらの結果により、接着剤混合物は、酸化でんぶんの濃度及び混合物のpHが増加するに伴って、より速やかに硬化することが明らかである。

1%濃度と0.75%濃度の酸化でんぶんは、ほぼ30秒以内の差で同様の結果となる。これに反して、0.75%濃度と0.5%濃度の酸化でんぶんとは、実質的な差が認められる。

結合されたゲルは、優れた粘着性を示し、又、弾性様外観を有し、その弾性様外観は、酸化でんぶん濃度が低くなるにつれてより際立ったものとなり、この違いはずっと続く。

0.5%酸化でんぶんから得たゲルは、高い弾性を示す。

3%酸化でんぶんの標準濃度のものは、それに関する限り、より低い弾性を有する高抵抗性ゲルとなる。酸化

\* この調査では、酸化でんぶんは、水で、それぞれ1%、0.75%、及び0.5%に希釈する。

更に、最初に、磷酸塩緩衝剤を用いて、異なったpH値のコラーゲン溶液を準備する。

得られた結果を下記表1に示す。

30 でんぶんの濃度1%又はそれ以下程度で、ゲルは、弾性を増加する。この性質は、数多くの適用に当たって利点となる。

実施例8:この発明による接着剤組成物の反応性時間に関する緩衝液濃度及びコラーゲンpHの影響

実施例7のとおり、一方ではほぼ17%のコラーゲン溶液と、他方で3.3%酸化でんぶん溶液、pH3.3、とに基づいて接着剤組成物を調整する。

40 0.01M~0.1Mの異なる濃度の磷酸塩緩衝剤をコラーゲンに添加する。又、磷酸塩のない照査標準となるコラーゲンを準備し、同じpHに調整する。

同時に、コラーゲンのpHによる影響を、pH6.9~7.45で変えた溶液を調整して調査した。

得られた結果を下記表2に示す。

表 2

コラーゲン 濃度 (%)	コラーゲン	リン酸塩 濃度 (M)	混合物の 重合時間	酸化でんぷん と混合した後の pH
17	7.12	0	45秒	6.75
17.3	7.44	0.05	18秒	7.15
17	7.45	0.1	15秒	7.30
16.6	7.05	0	1分20秒	6.60
16.8	7.25	0	1分5秒	6.69
16.9	7.06	0.05	33秒	6.94
16.9	7.36	0.05	17秒	7.11
16.6	6.95	0.01	1分	6.72
16.7	7.08	0.02	40秒	6.92
17	7.33	0.02	28秒	7.02

混合物の反応性は、コラーゲンのpH及びその緩衝力と共に増加することがわかる。

#### 実施例9:天然コラーゲンからの接着剤組成物の製造

ペプシンにより消化・溶解し、精製し、9g/l塩化ナトリウムでpH7に調整した、2%濃度のコラーゲン水溶液を用いる。

化学的に修飾されてないコラーゲン、又はスクシニル化若しくはメチル化により修飾したコラーゲンを、この実施例において区別なく用いることができる。全ての場合、コラーゲンのヘリカル構造は維持する。

製品を、+4℃に保管した2mlシリンジに、無菌状態で供給する。

\* 酸性の凍結乾燥した酸化でんぷんパウダーを、0.2M磷酸塩緩衝剤を用いて溶解し、pH7.50の1%の酸化でんぷん溶液を調整する。0.5mlシリンジを準備する。

コラーゲンとでんぷんのシリンジを、実施例3と同様のキットに組み合わせ、常温(20℃近く)に加熱する。

このキットから得られる混合物の接着力を評価するために、実施例3による接着性試験を豚皮の6.25cm<sup>2</sup>細長片を用いて行った。

得られた結果は次のとおりである。

測定された力は、4.5ニュートンである。引っ張りに抵抗するのに必要とされた仕事量は、3.15ジュールである。

\*

フロントページの続き

(72)発明者 ティオリエール、ジェローム  
フランス国、エフー69005 リヨン、リ  
ュ デ チェボチエール、18  
(72)発明者 グラバーナ、フィリップ  
フランス国、エフー69540 イリグニー、  
グランデーリュ、23

(72)発明者 タヨ、ジャンールイス  
フランス国、エフー69890 ラ トゥー  
ルド サルバニー、リュ デグリフィ  
ー、1

(13)



特許3238711

(56)参考文献 特開 平6-70972 (JP, A)  
特開 平7-112022 (JP, A)  
特開 平2-108611 (JP, A)  
特開 平3-239781 (JP, A)  
米国特許3057723 (US, A)

(58)調査した分野(Int.Cl.<sup>7</sup>, DB名)  
A61L 24/00 - 24/12  
CA (STN)  
MEDLINE (STN)